# 小菜蛾及菜蛾绒茧蜂乙酰胆碱酯酶 敏感性的相关变化

吴 刚1,赵士熙1,尤民生1,江树人2

(1. 福建农林大学植物保护学院,福州 350002; 2. 中国农业大学应用化学系,北京 100094)

摘要:用生物测定和生化检测的方法,对福州地区小菜蛾 Plutella xylostella 和菜蛾绒茧蜂 Apanteles plutellae 的抗药性及两种昆虫乙酰胆碱酯酶对杀虫剂的敏感性进行了田间监测。结果显示,从 1998 年 9 月至 1999 年 4 月,小菜蛾乙酰胆碱酯酶对 6 种有机磷和氨基甲酸酯杀虫剂敏感性逐渐恢复,寄生于同一虫源的菜蛾绒茧蜂乙酰胆碱酯酶敏感性的变化也呈明显的相关性,但菜蛾绒茧蜂乙酰胆碱酯酶的敏感性高于其寄主小菜蛾。脱离选择压力后,两种昆虫对杀虫剂的敏感性迅速恢复,乙酰胆碱酯酶的  $K_{in}$  位显著增高。对乙酰胆碱酯酶的  $K_{in}$  、  $V_{max}$  和  $K_{in}$  值测定结果表明,两种昆虫对有机磷和氨基甲酸酯杀虫剂的抗性与乙酰胆碱酯酶对杀虫剂的不敏感性有关。此外还研究了不同发育期小菜蛾乙酰胆碱酯酶活性及其  $K_{in}$  值的变化。探讨了在杀虫剂选择压力下,两种昆虫乙酰胆碱酯酶敏感性的环境适应性变化机制。

关键词:小菜蛾;菜蛾绒茧蜂;乙酰胆碱酯酶敏感性;杀虫剂

中图分类号: Q965.9 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2002)05-0623-06

# Correlated change of acetylcholinesterase sensitivity between *Plutella xylostella* and its parasitoid *Apanteles plutellae*

WU Gang<sup>1</sup>, ZHAO Shi-Xi<sup>1</sup>, YOU Min-Sheng<sup>1</sup>, JIANG Shu-Ren<sup>2</sup> (1. College of Plant Protection, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Department of Applied Chemistry, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: The acetylcholinesterase (AChE) sensitivity and insecticide resistance of *Plutella xylostella* and its parasitoid, *Apanteles plutellae* Kurd. collected from Fuzhou, Fujian Province, were detected and monitored by bioassays and biochemical analyses. The results show that the AChE sensitivity of P. xylostella to six kinds of organophosphorus and carbamate insecticides increased gradually from September 1998 to April 1999, and that sensitivity of A. plutellae (collected from the corresponding hosts) showed the same trend. AChE sensitivity was higher in A. plutellae than in P. xylostella. After release from the selective pressure of the insecticides, both P. xylostella and A. plutellae displayed a rapid recovery in susceptibility to these insecticides and a significant increase in the  $K_i$  value of AChE. Insecticide resistance was associated with insensitivity to AChE in P. xylostella and A. plutellae based on the kinetic parameters,  $K_m$ ,  $V_{max}$  and the bimolecular rate constant  $K_i$ . This paper also profiles the  $K_i$  activity of AChE at different developmental stages of susceptible and resistant P. xylostella, and discusses the possible mechanism of AChE sensitivity in natural populations of both P. xylostella and A. plutellae.

Key words: Plutella xylostella; Apanteles plutellae; acetylcholinesterase sensitivity; insecticide

由于杀虫剂的长期大量使用,已导致小菜蛾 Plutella xylostella 抗药性的迅速发展,为此,国内 外进行了大量的有关小菜蛾抗药性方面的研究,已 经证实小菜蛾对有机磷农药的抗性机制与乙酰胆碱 酯酶(acetylcholinesterase,AChE)敏感性降低和多 功能氧化酶、谷胱甘肽 S 转移酶及特异性酯酶活性增高有关(唐振华和周成理,1992,1993;陈言群等,1994;Kao et al.,1989)。对菜蛾绒茧蜂 Ap-anteles plutellae 的抗药性研究除进行了基础的生物学特性研究外(柯礼道和方菊莲,1982;吴梅香

基金项目:福建省自然科学基金资助项目(B0010012)

第一作者简介:吴刚,男,1958 年生,硕士,副教授,从事昆虫毒理学和抗药性研究,E-mail:newwug@263.net

等,1997),也有少量关于杀虫剂对绒茧蜂毒力测定及保护绒茧蜂的用药对策方面的研究(应松鹤,1988;范幸惠和何铠光,1971;施祖华和刘树生,1998;Ke et al.,1991;Main et al.,1984),但有关菜蛾绒茧蜂对有机磷杀虫剂抗性机制方面的研究尚未见报道。迄今,有关昆虫抗药性的研究,基本上是关于害虫的,对天敌的研究多是关于资源种类、生物学及杀虫剂毒力测定方面的工作,有关杀虫剂对天敌的毒理学机制、尤其是在杀虫剂选择压力下,害虫与其寄生性天敌在抵抗杀虫剂过程中协同进化的毒理学机制方面的研究,尚不多见。作者自1998年以来对田间小菜蛾和菜蛾绒茧蜂抗性监测及抗性机理进行了研究。本文旨在探讨在杀虫剂的选择压力下,小菜蛾和菜蛾绒茧蜂通过 AChE 敏感性的改变而表现出对环境适应的可能机制。

# 1 材料与方法

# 1.1 供试昆虫

抗性小菜蛾系从福州建新蔬菜基地田间采集, 经测定已对有机磷、氨基甲酸酯、除虫菊酯类杀虫 剂产生高抗性。敏感小菜蛾系本实验室室内长期饲 养。室内小菜蛾饲养按 FAO (1980) 推荐的甘蓝菜 幼苗饲养法饲养。于1998年9月、1999年1月和 1999年4月分别从田间采集小菜蛾,取健康活泼 的4龄幼虫用于生化实验,并取由同一时期同一批 小菜蛾幼虫中羽化而来的菜蛾绒茧蜂成虫进行生化 实验,分析田间小菜蛾和菜蛾绒茧蜂的生化监测结 果。脱离选择压力后小菜蛾对杀虫剂敏感性的实验 系将 1999 年 4 月虫源于室内饲养,分别取 F,和 F。 代幼虫进行测试,对同一虫源羽化而来的绒茧蜂, 按吴梅香等(1997)的方法,待雌雄交配后按30 头敏感小菜蛾幼虫: 1 对菜蛾绒茧蜂的比率,移入 田间网室中进行繁殖,不断移入2龄敏感小菜蛾和 甘蓝菜株,控制敏感小菜蛾与菜蛾绒茧蜂的比率, 分别取 Fa 和 Fa 代菜蛾绒茧蜂进行测试。取 3 龄小 菜蛾幼虫按赵建周等(1996)介绍的叶片浸渍饲喂 法进行化学杀虫剂的生物测定,48 h后检查死虫 数,计算 LC<sub>n</sub>。菜蛾绒茧蜂的生物测定参照范幸惠 等(1971)的药膜触杀法进行,计算触药 1 h 后的 茧蜂成虫死亡率。

# 1.2 化学试剂

碘化硫代乙酰胆碱(ATch)为 Sigma 产品; 5.5-二硫-双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)为 Carl Roth 产品;毒扁豆碱为 FLuka 产品。其他药品或试剂为 国产分析纯或化学纯。

### 1.3 供试杀虫剂

98%克百威原药、76%水胺硫磷原油、83%甲基异柳磷原油和71%三唑磷原油,福建福安农药厂产品;92.5%DDVP原油,湖北沙隆达股份有限公司产品;90%甲胺磷原药,福建三明农药厂产品;86%灭多威,山东济宁化工厂产品。

### 1.4 酶液提取

将4龄小菜蛾幼虫或菜蛾绒茧蜂成虫于 1/15 mol/L、pH 8.0 的磷酸缓冲液中匀浆,匀浆液在0℃、4000 r/min 下离心 15 min,取上清液作酶源。

#### 1.5 AChE 活力测定

根据 Ellman (1961) 及 Gorun (1978) 方法, 参照唐振华等(1992) 介绍的反应系统进行。

### 1.6 AChE 动力学性质测定

根据 Lineweaver-Burk 作图法求米氏常数  $K_{\rm m}$  和最大反应速度  $V_{\rm max}$ 值。

# 1.7 双分子速度常数( $K_i$ )测定

参照 Ayad(1975)方法进行,将酶液与抑制剂在 25 ℃下保温,在一定的时间间隔内取一定量的保温混合液加入到反应系统中,测定剩余酶活性,按照 Aldridge(1950)的方法计算  $K_i$  值。 $K_i$  值反映了抑制剂对 AChE 抑制作用的强弱,是检测 AChE 对有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂敏感性的一个参数, $K_i$  值愈大,AChE 敏感性愈高,反之亦然。

#### 1.8 蛋白质浓度测定

根据 Bradford (1976) 方法进行。 上述试验均重复 3 次以上。

# 2 结果

# 2.1 田间小菜蛾和菜蛾绒茧蜂对有机磷和氨基甲酸酯杀虫剂的敏感性监测

表1为田间小菜蛾和菜蛾绒茧蜂对有机磷和氨基甲酸酯杀虫剂的敏感性监测结果,与表2中敏感小菜蛾和脱离选择压力6代后的菜蛾绒茧蜂相比,田间小菜蛾已对有机磷和氨基甲酸酯杀虫剂产生高抗性,田间菜蛾绒茧蜂也对上述杀虫剂产生一定程度的抗性。纵观1998年11月、1999年9月和2000年2月(表1)和1999年4月(表2)的测定结果,小菜蛾和菜蛾绒茧蜂对有机磷和氨基甲酸酯杀虫剂的抗性水平在一年间有明显变化。小菜蛾和菜蛾绒

茧蜂对所用的 5 种杀虫剂的敏感性与其 AChE 的敏感性 (表 3) 有关。克百威对小菜蛾的毒力远高于敌敌畏,而对菜蛾绒茧蜂的毒力却低于敌敌畏,这可能与我们所采用的测试方法有关,克百威对小菜蛾的毒力测试结果包含了触杀和胃毒两种作用,对菜蛾绒茧蜂则仅为触杀作用,而克百威对昆虫具极强的胃毒作用。

# 2.2 脱离选择压力后小菜蛾和菜蛾绒茧蜂的抗性

### 衰退

生物测定结果表明,脱离选择压力 8 代后,小菜蛾对杀虫剂敏感性迅速恢复,其中对水胺硫磷的敏感性恢复速度快于甲胺磷,但与敏感小菜蛾相比,对甲胺磷和水胺硫磷的抗性仍有 4.0 倍和 2.1 倍。田间菜蛾绒茧蜂脱离选择压力后,对甲胺磷和水胺硫磷的敏感性也显著升高 (表 2)。

#### 表 1 田间小菜蛾和菜蛾绒茧蜂对杀虫剂的敏感性

Table 1 Monitored susceptibility of P. xylostella and A. plutellae to insecticides in the field

		小菜蛾 P	. xylostella		菜蛾绒茧蜂 A. plutellae			
杀虫剂	Nov.,	1998	Sep.,	1999	Feb.,	2000		
Insecticide	LC <sub>50</sub>	斜率 b			浓度(mg/L) <sup>①</sup>	死亡率 (%) <sup>©</sup>		
	(mg/L)	Slope	$(_{\mathrm{mg}/\mathrm{L}})$	Slope	Concentration	Mortality		
水胺硫磷 isocarbophos	2863.8	2.1	1884.7	2.1	150.0	$42.5 \pm 25.4$		
甲胺磷 methamidophops	2791.7	3.5	2121.9	3.7	150.0	$31.8 \pm 4.1$		
敌敌畏 dichlorphos	1022.5	2.2	1999.6	1.5	15.0	$74.6 \pm 10.7$		
灭多威 methomyl	1732.9	2.9	1281.6	2.1	150.0	$25.5 \pm 9.5$		
克百威 carbofuran	603.4	2.3	237.4	2.7	20.0	$57.5 \pm 10.3$		

①制作药膜的药剂浓度 The concentration of insecticides used in the preparation of residiual film; ②实验数据为平均值 ± 标准差 The values are means ± SD. 下同 The same for following tables

### 表 2 脱离选择压力后小菜蛾和菜蛾绒茧蜂的抗性衰退

Table 2 Decline of *P*. xylostella and *A*. plutellae resistance to insecticides after release from the selective pressure of insecticide application

× + +			小菜蛾 🗷	C <sub>50</sub> (mg/L)			菜蛾绒	茧蜂死亡率	(%)⊕
杀虫剂 *			P. xylos	A. plutallae mortality					
Insecticide	${F_0}^{\oslash}$	$F_8$	$S^{\odot}$	$F_0/F_8$	$F_0/S$	$F_8/S$	$F_0$	$\mathbf{F}_{6}$	$F_6/F_0$
甲胺磷 methamidophos	2257.5	332.8	84.0	6.8	26.9	4.0	$36.4 \pm 8.0$	100.0	> 2.7
水胺硫磷 isocarbophos	1922.7	209.5	97.7	9.2	19.7	2.1	$23.7 \pm 6.8$	78.3	3.3

①杀虫剂的处理浓度是 100 mg/L; ②1999 年 4 月采自田间; ③敏感品系

# 表 3 田间小菜蛾和菜蛾绒茧蜂 AChE 对杀虫剂敏感性的监测结果

Table 3 Monitored sensitivity of AChE in P. xylostella and A. plutellae to insecticides

			$K_i \mid mol/$	(L•min)]				
杀虫剂		小菜蛾 P. xylostel	la	菜!	峨绒茧蜂 A. plut	$(\times 10^{4}) \qquad (\times 10^{4})$ $1.67 \pm 0.79 \qquad 8.24 \pm 2.0$ $1.73 \pm 0.14 \qquad 7.16 \pm 1.09$ $1.08 \pm 0.05 \qquad 4.69 \pm 0.74$ $4.58 \pm 0.34 \qquad 17.78 \pm 3.22$ $16.34 \pm 1.13 \qquad 396.82 \pm 19.79$		
Insecticides	Sep., 1998	Jan., 1999	Apr., 1999	Sep., 1998	Jan., 1999	Apr., 1999		
	$(\times 10^3)$	$(\times 10^3)$	$(\times 10^3)$	$(\times 10^4)$	( × 10 <sup>4</sup> )	(×10 <sup>4</sup> )		
水胺硫磷 isocarbophos	$0.43 \pm 0.07$	$1.38 \pm 0.11$	$1.92 \pm 1.02$	$0.50 \pm 0.05$	$1.67 \pm 0.79$	$8.24 \pm 2.0$		
甲胺磷 methamidophos	$0.16 \pm 0.05$	$0.32 \pm 0.09$	$2.35 \pm 0.12$	$0.54 \pm 0.03$	$1.73 \pm 0.14$	$7.16 \pm 1.09$		
甲基异柳磷	$0.10 \pm 0.02$	$0.52 \pm 0.15$	$2.96 \pm 1.92$	$0.36 \pm 0.03$	$1.08 \pm 0.05$	$4.69 \pm 0.74$		
Isofenphos methyl								
灭多威 methomyl	$0.88 \pm 0.08$	$2.06 \pm 0.2$	$2.97 \pm 0.16$	$0.94 \pm 0.08$	$4.58 \pm 0.34$	$17.78 \pm 3.22$		
克百威 carbofuran	$8.95 \pm 0.44$	$11.83 \pm 6.14$	$150.37 \pm 9.26$	$8.40 \pm 0.39$	$16.34 \pm 1.13$	$396.82 \pm 19.79$		
敌敌畏 dichlorphos	$1.92 \pm 0.13$	$4.14 \pm 0.30$	23.52 ± 18.93	_	_	_		
三唑磷 trizophos	_	_	_	$0.61 \pm 0.02$	$2.35 \pm 0.96$	$7.68 \pm 0.73$		

① Concentration of insecticide applied was 100 mg/L; ② Collected from the field in Apr. 1999; ③The susceptible strain

# 2.3 田间小菜蛾和菜蛾绒茧蜂 AChE 对杀虫剂敏感性的监测结果

表 3 为田间小菜蛾和菜蛾绒茧蜂 AChE 对杀虫剂敏感性的监测结果,与敏感小菜蛾(表 7)相比,田间小菜蛾 AChE 对所用的 6 种有机磷和氨基甲酸酯杀虫剂均表现出高度的不敏感性,但从1998年8月至1999年4月,敏感性不断增高,变化极显著。同一时期由同一批小菜蛾虫源羽化而来的菜蛾绒茧蜂的 AChE 敏感性的变化趋势与小菜蛾相同,但前者的敏感性显著高于后者。

# 2.4 小菜蛾和菜蛾绒茧蜂 AChE 的 $K_{\mathrm{m}}$ 和 $V_{\mathrm{max}}$

表 4 为室内敏感小菜蛾,田间小菜蛾和菜蛾绒茧蜂 AChE 的  $K_m$  和  $V_{max}$ 测定结果。抗性小菜蛾 AChE 的  $K_m$  值是敏感小菜蛾的 183 倍,表明抗性小菜蛾 AChE 对底物的亲和性远低于敏感的小菜蛾,抗性小菜蛾 AChE 的  $V_{max}$  值也明显小于敏感的小菜蛾。1999 年 4 月从田间采回的菜蛾绒茧蜂 AChE 的  $K_m$  值与敏感小菜蛾相近,它的  $V_{max}$  值略高于敏感小菜蛾。根据我们室内测定结果,抗性小菜蛾 AChE 活性不出现底物抑制现象,而敏感小菜蛾及田间菜蛾绒茧蜂(1999 年 4 月虫源)均出现底物抑制现象。

# 2.5 不同发育期小菜蛾 AChE 活性和 $K_i$ 值的比较

抗性和敏感小菜蛾 AChE 活性在 1 龄至蛹期变化不大,至成虫期升高。其中,抗性小菜蛾成虫期AChE 活性显著高于 4 龄幼虫;抗性小菜蛾各发育期 AChE 活力均明显小于敏感小菜蛾的相应值(表5)。抗性小菜蛾各发育期 AChE 对水胺硫磷和克百威的敏感性也明显低于敏感品系的;但抗性和敏感小菜蛾 AChE 对这两种杀虫剂的敏感性,从 1 龄幼虫至蛹期变化不大,在成虫期上升。

# 2.6 脱离选择压力后小菜蛾和菜蛾绒茧蜂 AChE 的 *K*, 值的变化

脱离选择压力 8 代后,小菜蛾 AChE 对 6 种杀虫剂敏感性明显恢复, $F_8$  代敏感性( $K_i$  值)是  $F_0$  代的  $3.5 \sim 14.0$  倍,但与敏感小菜蛾相比,仍具较高的不敏感性。1999 年 4 月的田间菜蛾绒茧蜂AChE 对 6 种杀虫剂的敏感性已高达  $4.69 \times 10^4 \sim 3.97 \times 10^6$ ,在不接触杀虫剂且寄主完全为敏感小菜蛾的情况下,经过 6 代,AChE 敏感性也有改变,但变化幅度小于小菜蛾,除对克百威的  $K_i$  值变化达 10.37 倍外,对其余杀虫剂的  $K_i$  值变化幅度为  $1.8 \sim 3.0$  倍(表 7)。

表 4 小菜蛾和菜蛾绒茧蜂 AChE 的  $K_{\rm m}$  和  $V_{\rm max}$ 

Table 4 $K_{\rm m}$ , $V_{\rm max}$ of AChE in P. xylostella and A. pl
--

 试虫	$K_{ m m}$	比值	${\dot V}_{ m max}$	 比值
Insect tested	(mol)	Ratio	[nmol/ (mg*min)]	Ratio
敏感小菜蛾 S-P. xylostella	$(10.16 \pm 0.79) \times 10^{-5}$	1.00	11.34 ± 1.76	1.00
抗性小菜蛾 R-P. xylostella*	$(1.88 \pm 0.19) \times 10^{-2}$	183.03	$6.98 \pm 0.12$	0.69
菜蛾绒茧蜂 A. plutellae*	$(4.94 \pm 3.88) \times 10^{-5}$		$15.98 \pm 3.64$	

<sup>\* 1999</sup>年4月取自田间 Collected from the field in Apr., 1999

表 5 不同发育期小菜蛾的 AChE 活性

Table 5 AChE activity [nmol/ (mg·min)] in P. xylostella at different stages of development

发育期 Stage	敏感小菜蛾 S-P. xylostella	抗性小菜蛾 R- <i>P.xylostella</i>	抗性/敏感 R/S
		<u> </u>	
1龄1st instar	9.47 ± 1.84 a	$6.52 \pm 0.34$ ab	0.69
2龄 2nd instar	$11.32 \pm 0.49$ a	$5.95 \pm 0.15$ ab	0.53
3龄 3rd instar	9.49 ± 0.65 a	$6.08 \pm 0.13$ ab	0.64
4龄4th instar	10.32 ± 1.73 a	5.50 ± 0.57 a	0.53
蛹 pupa	11.83 ± 1.77 a	$6.23 \pm 0.34$ ab	0.53
成虫 adult	$14.67 \pm 2.18$ a	$9.78 \pm 1.78 \text{ b}$	0.66

同一栏内数据后有不同字母表示差异显著(P < 0.05),下同

				表 6	11 P	可反旨	拥	小来	斑 A	ChE	HA	K <sub>i</sub> 111			
Tabla 6	W	[mol/	<b>(Τ</b> .		of	ACST	in	D	I	tolla	of	different	ctoccc	۰e	dovo

发育期	敏感小菜蛾 S	-P. xylostella	抗性小菜蛾 R-P. xylostella			
Stage	水胺硫磷	克百威	水胺硫磷	克百威		
- Cago	Isocarbophos (×10 <sup>5</sup> )	Carbofuran ( $\times 10^7$ )	Isocarbophos (×10³)	Carbofuran (×10 <sup>5</sup> )		
1龄1st instar	$2.22 \pm 0.17$ a	4.39 ± 0.59 a	$3.52 \pm 0.87$ ab	$5.05 \pm 0.12$ a		
2龄 2nd instar	$1.65 \pm 0.38$ a	$4.23 \pm 0.35$ a	$3.03 \pm 1.51$ b	$6.90 \pm 0.08$ ab		
3龄 3rd instar	$1.78 \pm 0.39$ a	$4.01 \pm 1.34$ a	$3.69 \pm 1.50$ ab	$5.91 \pm 0.13$ ab		
4龄 4th instar	$1.80 \pm 0.20$ a	$4.24 \pm 1.29$ a	$4.85 \pm 1.80 \text{ ab}$	$6.25 \pm 0.16$ ab		
蛹 pupa	$1.63 \pm 0.21$ a	$4.14 \pm 0.83$ a	$3.09 \pm 1.40 \text{ b}$	6.87 ± 0.36 ab		
成虫 adult	$2.40 \pm 0.17$ a	$4.86 \pm 0.86$ a	4.88 ± 1.10 a	$8.50 \pm 0.02 \text{ b}$		

表 7 田间小菜蛾和菜蛾绒茧蜂脱离选择压力后 AChE 的  $K_i$  值的变化

Table 7 Alternation in  $K_i$  of AChE in P. xylostella and A. plutellae after release from the selective pressure of insecticide application in the field

杀虫剂		小菜蛾 /	o. xylostella		菜蛾绒茧蜂 A. plutellae			
Insecticide	$F_0 (\times 10^3)$	$F_8 (\times 10^4)$	S* (×10 <sup>5</sup> )	F <sub>8</sub> /F <sub>0</sub>	$F_0 (\times 10^4)$	$F_6 (\times 10^5)$	F <sub>6</sub> /F <sub>0</sub>	
水胺硫磷 isocarbophos	1.92 ± 1.02	1.14 ± 0.09	1.31 ± 0.17	5.93	8.23 ± 2.0	2.14 ± 0.14	2.60	
甲胺磷 methamidophos	$2.35 \pm 0.12$	$0.85 \pm 0.12$	$1.15 \pm 0.07$	3.62	7.16 ± 1.99	$1.52 \pm 0.60$	2.12	
甲基异柳磷 isofenphos methyl	2.96 ± 1.92	1.23 ± 1.17	$0.83 \pm 1.12$	4.20	$4.69 \pm 0.74$	$1.03 \pm 0.09$	2.19	
灭多威 methomyl	$2.99 \pm 0.16$	$2.48 \pm 0.57$	$1.81 \pm 0.15$	8.02	$17.78 \pm 3.21$	$3.14 \pm 0.07$	1.76	
克百威 carbofuran	$150.4 \pm 9.3$	209.2 ± 49.2	354.3 ± 27.3	13.94	396.8 ± 19.8	411.3 ± 10.1	10.37	
敌敌畏 dichlorphos	23.52 ± 18.93	8.48 ± 1.99	9.08 ± 0.73	3.46	_	_	_	
三唑磷 trizophos	_	_	_	_	$7.67 \pm 0.72$	$2.23 \pm 0.55$	2.92	

<sup>\*</sup> 敏感品系 susceptible strain

# 3 讨论

昆虫 AChE 对有机磷和氨基甲酸酯杀虫剂的不敏感性常伴随着对其正常底物的水解能力和亲和力降低(唐振华和周成理,1992; Zhu,1995),我们测定的小菜蛾和菜蛾绒茧蜂 AChE 的  $K_{\rm m}$ 、  $V_{\rm max}$ 和  $K_{\rm i}$  值结果也证实了这一点。

福州地区小菜蛾已对有机磷和氨基甲酸酯杀虫剂产生高抗,菜蛾绒茧蜂也存在一定程度的抗性,同时,两种昆虫对上述杀虫剂的抗性在一年间有较大变化。在我们取样的蔬菜基地,1998年秋季小菜蛾对有机磷类杀虫剂达到极高的抗性,此时田间小菜蛾对杀虫剂的敏感性最低,以后采用苏云金杆菌和微量阿维菌素混剂防治取得很好效果,与此同时,田间小菜蛾对有机磷农药的抗性也开始缓解。1998年9月至1999年4月小菜蛾AChE对所用的6种杀虫剂敏感性的变化逐渐增高的事实也证实了这

一点。我们注意到寄生在同一小菜蛾虫源的菜蛾绒 茧蜂 AChE 对有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂敏感性 的变化呈现出与小菜蛾相同的趋势,这表明在杀虫 剂的选择压力下,菜蛾绒茧蜂也存在着抗性演化过 程。究其原因,我们认为,除了存在田间用药措施 直接对菜蛾绒茧蜂进行汰选的因素外,进入小菜蛾 体内的杀虫剂也会对寄生性天敌菜蛾绒茧蜂的抗性 形成产生重要影响。由于常规的防治小菜蛾的用药 剂量会杀死喷药区中的菜蛾绒茧蜂,因此在田间喷 药区一般很难见到菜蛾绒茧蜂,偶尔见到的菜蛾绒 茧蜂主要来自附近未喷药区、田间杂草、短时间触 药后逃离喷药区以及于喷药前(喷药间隔期间)已 寄生于小菜蛾体内的菜蛾绒茧蜂,只要寄主小菜蛾 能在喷药后存活下来,则体内的菜蛾绒茧蜂也将幸 存下来。不同抗性水平的小菜蛾所能忍受的杀虫剂 剂量不同,而进入其体内的杀虫剂的浓度环境将造 成对菜蛾绒茧蜂的选择压力,从而又影响到菜蛾绒 茧蜂 AChE 对这些杀虫剂的敏感性, 在杀虫剂的选 择压力下,小菜蛾和菜蛾绒茧蜂通过 AChE 敏感性

的变化而表现出对环境的适应性及协同进化机制, 尤其在高选择压力下形成高度不敏感的小菜蛾,其 体内菜蛾绒茧蜂 AChE 也表现出很高的不敏感性 (如1998年9月虫源)。虽然昆虫对有机磷和氨基 甲酸酯类杀虫剂的抗性除与最主要的靶标酶 AChE 敏感性降低有关外外, 也与多功能氧化酶、谷胱甘 肽 S-转移酶及羧酸酯酶活性增高有关,但我们认 为寄生性天敌与植食性昆虫在进化过程中为免受植 物次生代谢物之害而增加了自身氧化代谢的解毒能 力不同,前者因不直接接触植物而缺乏这种前适 应,因此菜蛾绒茧蜂 AChE 敏感性的改变在其对有 机磷的抗性机制中将具有更为重要的意义。由于田 间能够存活下来的菜蛾绒茧蜂所面临的杀虫剂选择 压力比小菜蛾温和得多,因此其 AChE 对杀虫剂的 敏感性与同一虫源的小菜蛾相比仍高得多, 而一旦 脱离选择压力后,其敏感性恢复的速度也不如小菜 蛾快。

小菜蛾 AChE 的活性及  $K_i$  值在幼虫期和蛹期变化不大,但在成虫期酶活性增高。敏感小菜蛾成虫对有机磷和氨基甲酸酯杀虫剂的  $K_i$  值比幼虫期和蛹期高,但差异不显著,而抗性小菜蛾成虫的  $K_i$  值明显高于幼虫和蛹期。这可能是由于田间幼虫通过体壁渗透及取食途径,杀虫剂进入体内的机会和剂量远大于成虫而产生的适应。

# 参考文献(References)

- Aldridge W N, 1950. Some properties of specific cholinesterase with particular reference to mechanism of inhibition by diethyl p-nitrophenyl thiophosphate (E605) and analogues. *Biochem*. J., 46: 451-460.
- Ayad H. Georghiou G P. 1975. Resistance to organophosphates and carbamate in *Anopheles albimanus* based on reduced sinsitivity of acetylcholinesterase. J. Econ. Entomol., 68: 295 – 297.
- Bradford M M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein unitizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248 – 254.
- Busvine J R. 1980. Recommended methods for measurement of pest resistance to pesticides. FAO. Rome. 119-112.
- Chen Y Q, Yan F, Sun Y Q, 1994. Influence of aldrin epoxidationase and cytochrome P 450 on the development of insecticide resistance in diamondback moth, *Plutella xylostella* L. *Acta Entomol. Sin.*, 37 (3): 280 285. [陈言群,扬帆,孙耘芹,1994. 艾氏环氧化酶及细胞色素 P-450 对小菜蛾抗药性的影响。昆虫学报,37 (3): 280 285]
- Ellman G L. Courtney K D. Andress V. Featherstone R M. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity.

  Biochem. Pharmacol., 7: 88 95.

- Fan X H, Ho K K, 1971. A preliminary study on the life history, rearing method of *Apanteles plutellae* Kurd. And the effects of different insecticides to it. *Plant Prot. Bull.*, 13 (4): 86-90. [范幸惠,何铠光,1971. 小菜蛾绒茧蜂(*Apanteles plutellae* Kurd.)生活习性、繁殖方法及几种杀虫剂对其影响的初步研究. 植物保护学会会刊,13 (4): 86-90]
- Gorun V, Proinov I, Baltescu V, Balaban G, Barzu O, 1978. Modified Ellman procedure for preparations. Anal. Biochem., 86: 324 – 326.
- Kao C H, Hung C H, Sun C N, 1989. Parathion and methyl parathion resistance in diamond back moth (Lepidoptera: Plutellidae) larvae. J. Econ. Entomol., 82: 1 299 1 304.
- Ke L D, Fang J L, 1982. Studies on the biology of the braconid wasp, Aparteles plutellae Kurdjumov. Acta Phytophylacica Sinica, 9 (1): 27 34. [柯礼道, 方菊莲, 1982. 菜蛾绒茧蜂生物学研究. 植物保护学报, 9 (1): 27 34]
- Ke L S, Moore D, Waage J K, 1991. Selection for fenitrothion resistance in Apanteles plutellae Kurd. (Hymenoptera: Braconide). J. Appl. Entomol., 112: 107 – 110.
- Main M. Krishnamoorthy A. 1984. Toxicity of some insecticides to Apanteles plutellae, a parasite of the diamond back moth. Trop. Pest Manag., 30 (2): 130 132.
- Shi Z H, Liu S S, 1998. Toxicity of insecticides commonly used in vegetable fields to the diamondback moth, *Plutella xylostella*, and its parasite, *Cotesia plutellae*. *Chinese Journal of Biological Control*, 14 (2): 53-57. [施祖华,刘树生,1998. 菜田常见杀虫剂对小菜蛾和绒茧蜂的选择毒杀作用.中国生物防治,14 (2): 53-57]
- Tang Z H, Zhou C L, 1992. Acetylcholinesterase sensitivity in resistant *Plutella xylostella* (L.). *Acta Entomol. Sin.*, 35 (4): 385 392. [唐振华,周成理,1992. 抗性小菜蛾的乙酰胆碱酯酶敏感性. 昆虫学报,35 (4): 385 392]
- Tang Z H, Zhou C L, 1993. The role of detoxication reterases in insecticide resistance of diamondback moth *Plutella xylostella* larvae. *Acta Entomol. Sin.*, 36 (1): 8-13. [唐振华,周成理,1993. 解毒酯酶在小菜蛾幼虫抗药性中的作用. 昆虫学报,36 (1): 8-13]
- Wu M X, You M S, Guo Y, 1997. Parasitical efficiency of *Cotesia plutellae* Kurdjumov (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Fujian Agricultural University*, 26 (4): 432 434. [吴梅香, 尤民生, 郭莹, 1997. 小菜蛾绒茧蜂的寄生效能. 福建农业大学学报, 26 (4): 432 434]
- Ying S H, 1988. Contact toxicity of some insecticides to certain hymenopterous parasitoids. *Acta Entomol. Sin.*, 1988, 31 (1): 20-25. [应松鹤, 1988. 某些杀虫剂对数种寄生蜂的触杀活性. 昆虫学报, 31 (1): 20-25]
- Zhao J Z, Wu S C, Gu Y Z, Zhu G R, Ju Z L, 1996. Strategy of insecticide resistance management in the diamondback moth. *Scientia Agricultura Sinica*, 1996, 29 (1): 8-14. [赵建周,吴世昌,顾言真,朱国仁,剧正理,1996. 小菜蛾抗药性治理对策研究. 中国农业科学, 29 (1): 8-14]
- Zhu K Y, 1995. Comparisons of kinetic properties of acetylcholeinesterase purified from azinphosmethys-susceptible and resistant strains of colorado potato beetle. *Pestic*. *Biochem*. *Physiol*., 51 (1): 57-76.